

УДК 612.111.6:616.2

*А. С. Шафорост, Е. В. Воропаев*  
Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
г. Гомель, Республика Беларусь

## МЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

### *Введение*

Острые респираторные инфекции (ОРИ) занимают лидирующее положение среди всех инфекционных заболеваний. Несмотря на низкую относительную смертность в Европейском регионе ВОЗ (11 случаев на 100 тыс. населения) на фоне событий пандемии COVID-19, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, исследование патогенеза ОРИ с помощью ранее не использовавшихся в клинической практике методов становится актуальным [1].

Кровь и ее клеточные элементы играют важную роль в патогенезе острых респираторных инфекций. Они выступают в качестве маркеров протекания инфекционного процесса (увеличение/уменьшение количества отдельных популяций клеток крови, изменение размера клеток, появление незрелых форм и изменение скорости оседания эритроцитов), анализируя которые можно судить о его природе и тяжести течения. В ответ на размножение вирусов или бактерий организм отвечает путем клеточного, а затем и гуморального иммунного ответа. В результате этого происходит изменение условий среды в которых существуют клетки крови, что не может не отразиться на них. Благодаря развитию новых инструментальных методов исследования, в частности атомно-силовой микроскопии (АСМ), появилась возможность непосредственного исследования морфологии, структуры и механических свойств клеток.

Одним из объектов, чаще всего исследуемых методом АСМ, являются эритроциты. Согласно имеющимся данным вирус гриппа способен попадать внутрь эритроцитов посредством взаимодействия белка гемагглютинина оболочки вируса с остатком сиаловой кислоты в молекуле ганглиозида на поверхности мембраны клетки. Следствием инфицирования являются гемолиз эритроцитов и нарушение процессов газообмена [2]. Существуют данные и о возможности проникновения вируса SARS CoV-2 внутрь эритроцитов посредством взаимодействия шиповидного белка S1 вируса с белком RBC Band3 на мембране эритроцита. В результате этого происходит денатурация гемоглобина, что приводит к нарушению метаболизма железа, нарушение биохимических процессов, дегенерация митохондрий и в конечном итоге апоптоз клетки, что приводит к усугублению гипоксии и повышению тяжести течения заболевания [3]. В ответ на вышеописанные изменения происходит модификация физико-механических параметров мембраны эритроцитов. Существуют ли различия между подобными изменениями при различных острых респираторных заболеваниях?

### *Цель*

Проанализировать изменения наномеханических свойств и архитектоники эритроцитов при COVID-19 и других ОРИ.

### *Материалы и методы исследования*

Для исследования использовали 14 образцов венозной крови из банка биоматериала научно-исследовательской лаборатории Учреждения образования «Гомельский госу-

дарственный медицинский университет», которые были получены от пациентов с тяжелым течением COVID-19 (группа 1,  $n = 4$ ), с заболеванием средней тяжести с различным сроком после выздоровления (группа 2,  $n = 5$ ) и здоровые люди без COVID-инфекции и хронических заболеваний (группа 3,  $n = 5$ ). Полученные из венозной крови эритроциты фиксировали в течении 30 мин в 1% растворе глутарового альдегида забуференного PBS, затем отмывали трижды свежим раствором PBS и два раза дистиллированной водой, затем помещали на предварительно подготовленные стекла и высушивали при комнатной температуре. АСМ-исследования проводили на атомно-силовом микроскопе НТ-206 (ОДО «Микротестмашины», РБ) в контактном режиме с использованием зонда CSC38 (игла В, коэффициент жесткости 0,03 Н/м). Для анализа карт рельефа и карт латеральных сил использовали АСМ-изображения размером  $2,5 \times 2,5$  мкм с разрешением  $256 \times 256$  точек. Обработку полученных данных проводили с помощью программы «SurfaceExplore 1.3.11» (ОДО «Микротестмашины», РБ). В режиме карты латеральных сил оценивали показатели силы трения ( $F_l$  или  $F_r$ ) и шероховатости ( $R_q$ ). Величину силы трения рассчитывали, как полуразность латеральных сил при прямом и обратном проходе зонда [4]. Результаты представлены в виде среднего значения и границ 95 % ДИ. Сравнение средних значений параметров выборок проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Анализ морфологии эритроцитов показал, что при COVID-19 наблюдается увеличение количества сфероцитов и дегенеративных форм эритроцитов, что также наблюдается и при таких респираторных заболеваниях, как бронхит, пневмония и респираторно-синцитиальной инфекция (рисунок 1) [4].

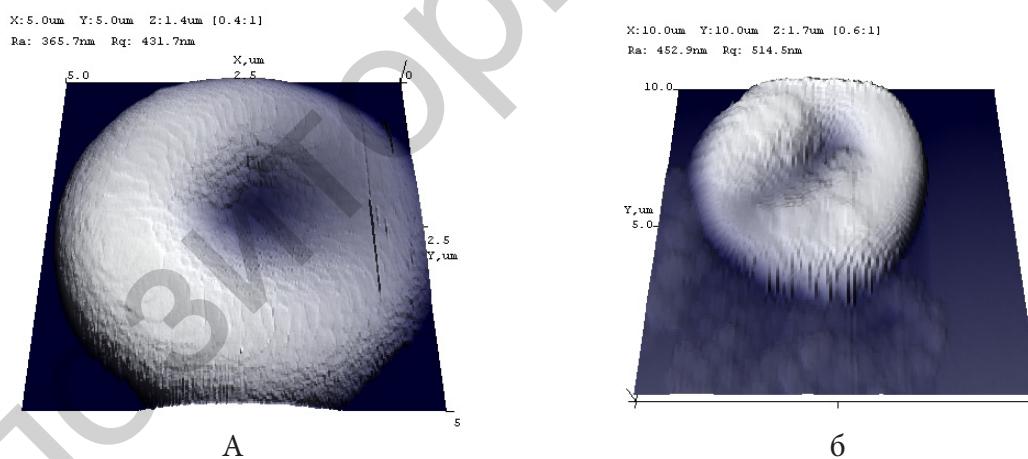


Рисунок 1 — Трехмерные изображения дискоцита (а) и одной из аномальных форм эритроцитов (б)

На трехмерном изображении тромбоцита заметны детали, которые отсутствуют у дискоцита: небольшие бугры в центральной части и более развитые структуры на периферии клетки, которые возникают вследствие указанных выше причин.

Изучение АСМ-изображений, полученных в режиме карты латеральных сил, позволяет оценить механические свойства исследуемой поверхности по значению величин силы трения ( $F_l$  или  $F_r$ ) и шероховатости ( $R_q$ ). Анализ полученных данных показал, что значимые различия между группами 1 и 2 и контролем существуют для показателя силы трения (рисунок 2).

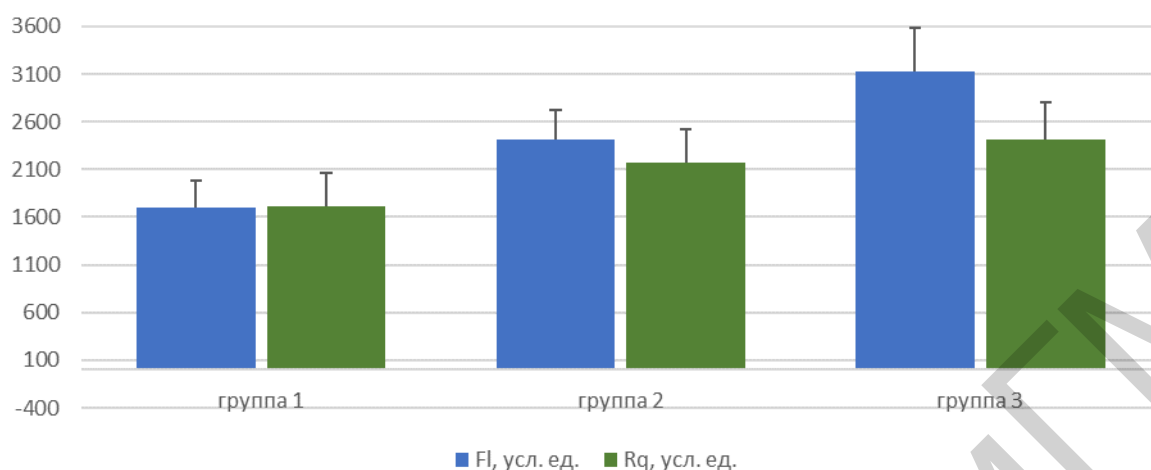


Рисунок 2 — Величины силы трения и шероховатости у пациентов с тяжелым течением COVID-19 (группа 3), пациентов, перенесших коронавирусную инфекцию спустя некоторое время после болезни (группа 2) и интактного контроля (группа 1)

Значения  $R_q$  увеличиваются с ростом тяжести течения COVID-19 и составляют у здоровых людей (1718,80 [95 % ДИ 1372,39–2063,99] усл. ед.), в группе 2 — (2173,49 [1830,06–2516,92] усл. ед.) и у пациентов с тяжелым течением заболевания (2409,24 [2015,37–2803,11] усл. ед.). Величина силы трения позволяет оценить жесткость мембраны: с увеличением  $F_1$  поверхность клетки становится более мягкой. Следовательно, согласно полученным результатам можно констатировать, что при увеличении тяжести течения заболевания или уменьшении времени после выздоровления наблюдается значимое снижение жесткости поверхностного слоя эритроцитов по сравнению с контролем: группа 1 (1694,80 [1403,60–1986,00] усл. ед.), группа 2 (2417,75 [2108,91–2726,59] усл. ед.,  $p < 0,05$ ) и группа 3 (3122,24 [2660,47–3584,01] усл. ед.,  $p < 0,05$ ).

Полученные результаты согласуются по характеру изменений величины силы трения и порядку полученных значений с данными, полученными при исследовании физико-механических свойств эритроцитов при различных респираторных заболеваниях (бронхит, пневмония и респираторно-синцитиальной инфекция) [4]. При этом значение  $F_1$  поверхности эритроцитов у пациентов с COVID-19 близко к таковому у пациентов с бронхитом, пневмонией и респираторно-синцитиальной инфекцией. Также по данным Стародубцевой М.Н. с коллегами существуют различия в величине силы трения поверхностного слоя поверхности дискоцитов и сфероцитов: у последних мембрана более жесткая.

Когда мембрана эритроцитов становится более мягкой, и, следовательно, менее вязкой, то визуально это проявляется в упрощении ее структурных элементов, т.е. наблюдается снижение количества и высота пиков на профиле поверхности. Численным выражением меры изменений профиля поверхности эритроцитов может служить отношение числа крупных участков к общему числу элементов макрорельефа. У пациентов с тяжелым течением COVID-19 (0,27 [95 % ДИ 0,17–0,37],  $p < 0,001$ ) и у пациентов с ранее перенесенным заболеванием (0,32 [0,26–0,38],  $p < 0,001$ ) наблюдали значимое уменьшение величины этого показателя в 1,99 и 1,65 раза соответственно по отношению к контролю. Таким образом, подтверждается тезис о повышении пластичности поверхностного слоя мембраны эритроцитов во время протекания и после перенесенной коронавирусной инфекции.

### **Заключение**

Анализ приведенных выше данных показывает, что изменения физико-механических свойств поверхностного слоя мембраны эритроцитов, проявляющиеся в значимом снижении ее жесткости близки у пациентов с COVID-19 незначительно отличаются от таковых при бронхите пневмонии и респираторно-синцитиальной инфекции, что может быть связано с тем, что острые респираторные инфекции при их протекании запускают в организме каскад реакций, которые отличаются по степени проявления, но близки по своей природе. Однако, вопрос сохранения выявленных изменений после перенесенной инфекции требует проведения дополнительных исследований.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. WHO European health information at your fingertips. [Electronic resource]. – Mode of access: [https://gateway.euro.who.int/en/indicators/hfa\\_290-1960-sdr-acute-respiratory-infections-pneumonia-and-influenza-under-5-years-per-100-000/](https://gateway.euro.who.int/en/indicators/hfa_290-1960-sdr-acute-respiratory-infections-pneumonia-and-influenza-under-5-years-per-100-000/). – Date of access: 25.09.2022.
2. Макарова, Е. С. Изучение взаимодействия вируса гриппа с единичными клетками эпителия и эритроцитами / Е. С. Макарова, И. В. Яминский // Медицина И Высокие Технологии. – 2016. – № 1. – С. 39–55.
3. Cavezzi, A. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review / A. Cavezzi, E. Troiani, S. Corrao // Clinics and practice. – 2020. – Vol. 10, № 2. – P. сp.2020.1271.
4. АСМ-диагностика патологии эритроцитов на основе физико-механического образа клеточной поверхности / М. Н. Стародубцева [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2015. – № 2 (44). – С. 99–104.

УДК 616-003.215:577.121.7]-073.75-092.9

*О. В. Шаховская<sup>1</sup>, Е. А. Медведева<sup>1</sup>, М. Н. Стародубцева<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии НАН Беларуси»

<sup>2</sup> Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

## **ЗАВИСИМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ РЕДОКС-СВОЙСТВ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ОТ ДОЗЫ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

### **Введение**

Рентгеновское излучение стимулирует выработку активных форм кислорода (АФК) митохондриями в течение длительного времени после облучения. Рентгеновское излучение повреждает ДНК посредством прямой ионизации атомов химических элементов в составе молекулы ДНК или ионизации молекулы воды с образованием АФК, которые впоследствии реагируют с ДНК. Кроме того, рентгеновское излучение вызывает отсроченный клеточный окислительный стресс в течение от нескольких часов до нескольких дней после облучения. Радиационно-индуцированный окислительный стресс может вести к гибели клеток.

Окислительно-восстановительный гомеостаз крови хорошо отражает состояние организма и может быть использован в качестве диагностического маркера [1]. Повышенный уровень АФК активирует устойчивые к стрессу сигнальные пути и индуцирует механизмы повреждения биологических важных молекул, включая ДНК, белки и липиды. Эффективность путей передачи сигнала, активируемых окислительным стрессом, снижается с возрастом. Организмы человека и животных разного возраста по-разному могут реагировать на такие повреждающие факторы как рентгеновское излучение [2].